19日本国特許庁(JP)

⑩ 特 許 出 願 公 閉

⑫公 開 特 許 公 報(A) 平2-1535

®Int. Cl. 5

識別記号

庁内整理番号

❸公開 平成2年(1990)1月5日

G 01 N 27/327

7363-2G 7363-2G

27/30

3 5 3 3 3 6

27/46 審査請求 未請求 請求項の数 4

(全21頁)

69発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の測定のためのセンサー

顧 昭63-251736

@出 顧 昭63(1988)10月5日

優先権主張

Ø1987年10月 5日 Ø米国(US) Ø104862

@発 明 カーター・アンダーソ

アメリカ合衆国ミネソタ州55417ブルツクリンパーク・シ

ツクステイセブンスウェイ 6057

個発 咞 者

デビッド・シー・ソジ

アメリカ合衆国ミネソタ州55408ミネアポリス・アービン

グアベニユーサウス 2654

アーデン・メデイカ ル・システムズ・イン アメリカ合衆国ミネソタ州55113ローズビル・ロングレイ クロード 2675

コーポレーテッド

79代 理 人

題

勿出

弁理士 小田島 平吉

最終頁に続く

明趣物

1、発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の 測定のためのセンサー

2、特許額次の範囲

1、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極か らなり、脱水素に対して懸受性の選択した化学的 程のレベルをその溶液中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的 に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用 するための1回使用の感知装置において、前記値 種の1つは、メチレンブルー、NAD+、パーフ ルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化 学的様の脱水楽のための酵素がらなる組成物で コーティングされていることを特徴とする前記感 知装置。

2、脱水薬に対して感受性の選択した化学的種 の遺底を、水溶性中において、そのためのデヒド ロゲナーゼ酢楽の存在下に決定する方法であっ て、電極上のコーティングの外表面を前記締蔽で ぬらし、前配溶液を前記コーティングを通過させ て前記電板と接触させ、そして前記電板と他の電 極との間の電流を生成させ、その後、顔記電流の アンペアを測定することからなり、前記コーティ ングはメチレンブルー、NAD+、パーフルオロ スルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種 の脱水楽のための修業からなることを特徴とする 前包方法。

3、NAD・、パーフルオロスルホン酸ポリ マー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナービ酵 者からなることを特徴とする遺植コーティング組 成物。

4、NAD+、パーフルオロスルホン酸ポリマ - 、ポリビニルビロリドン、硬化したポリ酢酸ビ ニルラテックスおよびデヒドロゲナーゼ酸害から なるコーティングをその上に有する雄電性本体が ちなることを特徴とする感知装置のための電極。

3. 発明の詳細な説明

木苑明は、医学的数数に関する。とくに、木苑 明は、水溶液、とくに体液、例えば、全血液、血

及および尿の中の酵素脱水素可能な物質、例えば、グルコースのレベルを、アンペア的に、測定するために使用する、臨床化学的分析装置に関する。

思者の血液または他の体液中のある種の化学的 物質および/または生物学的物質のレベルを抗症 に、信頼性をもって、かつ迅速な情報を得ること が、現代の診断医学において、要求されている。

最も普通の決定の1つは、血液または尿中のダ ルコースの決定であり、そして、便宜上、以後の 説明はグルコースのレベルの決定に集中される。

一回使用の連知装置を利用するこのような分析のために有用なシステムは、1987年3月31日付けの米国特許路4.554,127号(リチャード サ・ベイカーおよびロウジャー L.フンク) (その堺示を引用によってここに加える) に記載されている。

米国特許第4,854,127号の装置において、体液、例えば、血液または尿の試料を多窓の 受力の1つの室に入れ、一方目盛り定め解の液体 を受容の他の窓に入れる。次いで、センサーの遺 極へ、まず、日盛り定め刻の液体を放れさせ、次 いで試験は料を放れさせる。液体とセンサー電極 との画次の接触は電旋を発生させ、この電流を調 定しかつ関係づけて、試験旋体中の特定の物質の 透底に関する所望の情報を得る。次いで、キャリ ヤー(carrier)を廃業する。

米以特許が4、854、127号のシステムにおけるセンサーで様の各々は、ポリマーおよび能気的活性機を含むコーティングを有するものとして明示されており、ここでポリマーはセンサーの活性区域にわたって変をつくり、そしてシステムの導電性表面に近くに電気的活性機を固定化する機能を有する。

また、溶液中のそのレベルを測定すべきある物質、例えば、グルコースは、適当なデヒドロゲナーゼ酢素の存在下に脱水素に対して感受性であること、およびこのような脱水素は電子を遊離し、これによって測定可能な電液を発生することは知られている。ほとんどの場合において、脱水素は

 ぞれ、仲介物質の催化されたおよび溢元された形態を汲わす。

グルコースのレベルの世気化学的検出のための 最も普通のアッセイの系は、グルコースオキンダ ーゼの存在下に分子状酸素によりグルコースを酸 化して、グルコール酸および過酸化水素を生成す ることを含む。 世気化学的検出は、酸素の新能 に、あるいは過酸化物の発生に関係づけることが できる。

いずれの場合においても、この機構の主要な欠点は酸潔の利用可能性における制限である。この 制限は、試験旋体において直面することが期待される環境の所望の直盤の範囲のために、登別な酸 素の供給を保証するために、予備希釈を必要とする。さらに、全血液の測定は、ヘモグロビンの酸 素級衝化力のために、特値に測定することが非常 に困難である。

あるいは、先行技術は、化学反応において酸素 の代わりに仲介物質を使用し、これはセンサー電 板上の膜またはコーティング中に挿入されて、予 輸着駅の必要性を健康した。ペンジキノンを仲介 物質として選択する場合、グルコースとペンジキ ノンとのグルコースオキシダーゼの存在下の反応 はグルコール酸およびハイドロキノンを生成する。

この別法は、所望の(および測定する)反応が グルコースと分子状態素との前述の反応と競争す るという欠点を有する。こうして、異なる機楽造 底をもつ試料は、同一のグルコース機反において 異なる培養の応答を生成することがある。この妨 害は全血液の測定において最も顕著である。

本発明の1つの而によれば、キャリヤーおよび 少なくとも2つの電極からなり、脱水素に対して 感受性の選択した化学的種のレベルをその溶液中 においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在 下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的 分析炎器と一緒に使用するための1回使用の感知 変置において、前記電極の1つは、メチレンブル ー、NAD+、パーフルオロスルホン酸ポリマー および前記選択した化学的種の脱水素のための館

を、例えば、アンペアに翻訳するために必要な成分のすべては、グルコース合量の期待する直線の 範囲のために適切な供給で、コーティング中に配合される。こうして、試料の予備指訳は不必要で ある。

さらに、展業は測定において含まれず、そして 機楽の環度はそれに影響を及ぼさない。

コーディング中のメチレンブルーの存在は、低い印加電圧における検出および測定を可能とし、 こうしてより高い電位において酸化に感受性であ りうる後からの妨害を排除する。

本発明のコーティングされた遺標は、急速に応答し、2分以下の結構な規定を可能とする。

最後に、膜の組成物は水溶液中に可溶性でなく、そして信頼性ある測定の実施を可能とするために十分に長い期間の間その一体性を保持する。 アニオン性パーフルオロスルホン酸ポリマーはカチオン性メチレンブルーを膜に結合すると信じられる。

木苑明の悠知電極は御定アノードであり、好ま

姿からなる組成物でコーティングされていること を特徴とする前記感知装置が提供される。

本発明の他のの面によれば、脱木素に対して感受性の選択した化学的種の環度を、木溶性中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素のキャンでは、次定する方法であって、電極上のコーティンがを返過させて前記電極と接触させる。 成立 では、その後、前記電気のアンペアを測定することを特徴とする前記方法が根保されることを特徴とする前記方法が根保される。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水 溶性機能のポリマー、例えば、ポリピニルピロリ ドン(PVP)および水性エマルジョン接着剤、 例えば、ポリ酢酸ピニルラテックス接着剤を結晶 する。

本発明のシステムにおいて、グルコース合品

しくは単一のカソードおよび地面に電子を伝達する並列の2つの別々のアノードの1つである。他 方のアノードは、「バックグラウンドアノード」 と呼び、カソードおよび地面に関して一定の電圧 を維持する。こうして、この分野において知られ ているように、試験溶液に暴露されることによっ て起こる測定アノードにおける状態およびその上 の電子の発生の変化は、アノードおよびカソード の間に印加する電圧に無視できる影響のみを有する。

測定アノードおよびバックグラウンドアノード の円者は、好ましくはグラファイトから作る。カ ソードは、好ましくは、銀から作り、そして塩化 銀のコーティングをおする。前述のコーティング 紅成物でコーティングされるのは測定電極のみで ****

パーフルオロスルホン酸ポリマーが唯一の樹脂 成分であるコーティング組成物において、コーティングは目盛り定め剤(calibrant) の液体および試験液体のそれを通過する急速な時 送のためには密でありすぎる。こうして、このような組成物はより遅い試験において使用することができるが、急速な読みを提供することを理図するシステムにおいては好ましくない。

コーティング組成物が、また、水溶性樹脂のポ リマーを含む好ましい実施造様において、コー ティング組成物は目盛り定め何および試験溶液の それを通す象流な移送を可能とする。

好ましい組成物は、また、乾燥のとき気候した こぞうたいを形成する、水性エマルジョン接着 剤、例えば、ポリ酢酸ビニルラテックスを含有 し、これによって改良された一体性を組成物に与 える。

31 図は、本発明の感知装置10の全体の構成を示す。この装置は、強額な、非導電性プラスチック材料、例えば、アクリロニトリループタジエンースチレンーコポリマー (ABS) から作られた、剛性のカードの形態キャリヤー11、およびその一幅をカバーする板12を含む。板12は、一般に、透明なプラスチック材料から作られる

に取り付けられており、そして内部の整24を有し、この壁はシリンダーを、目過り定め別液体を含有する目盛り定め別窓26と血液または他の体験の試料を受取る試料窓27とに分割する。目過り定め別溶液は窓26内に工場で密閉され、そしてセンサーによって測定すべき、便知濃度のグルコースを含有する。キャップ28は、ウェブ29によってシリンダー23へ接続されており、そして試料窓27が体液試料を受取った後、シリンダー23の上端より上に配置される。

調定アノード21は、第2回に隣面図で示されており、グラファイトプラグ31、好ましくはグラファイトプラグから切ったシリンダーからなり、このプラグはカソード11のプラスチック材料中に孔を通して延びている。酸またはコーティング32は、プラグ31の1つの変面をカパーし、そしてそこから短い距離でプラグを取開むモート33に至る。キャリヤー11の両方の距における専電性トラック34は、確定アノードにおいて発生した電子を盛知象四内の彼点へ違き、そし

が、波明性は必須ではない。

キャリヤーの一幅に、仮より下に、毛質通路1 3が存在し、これはS字形であり、そしてギャリ ヤー!lの上表面と実質的に平坦なS字形カバー の下波面との間の狭い空間によって定められる。 毛煙道路13は入口端14と出口端16との間を 走行する。入口竭に、「ブラウ (plow)と呼 ぶ、S字形の毛管通路のカパーの上昇した部分 1 7が存在する。そのプラウの微能は、後途するよ うに、日底り足め削および共験旅旅を保持するは くに孔を開け、そしてこれらの溶液を、進起資 に、毛竹道路の入口14に入らせることである。 バックグラウンドアノード18、カソード19お よび湖定アノード21は、毛竹通路内に、その入 口に隣接して、存在し、そして各々は、御足アノ ード21について第2図に示すように、「モート (moat)」33によって収囲まれている。

円筒形ガイドスリーブ22は、入口17より上に板18の1つの角に取り付けられている。 多窓 シリンダー 23 はスリーブ22内に回転するよう

て完極的に所望の読みを提供するマイクロプロセッサへ減く。

バックグラウンドアノード18は、コーティングまたは関をもたない以外、制定アノード21に 類似する。カソード19はキャリヤー11を通し て延びる銀のプラグであり、その上波面は塩化銀の珍い層でコーティングされている。

コーティング32は、崩滅のように、少なくともグルコースデヒドロゲナーゼ(グルコースが測定すべき 化学機 でるとき)、メチレンブルー
[3,7ービス(ジメチルアミノ)フェノチアジンー5ーイウムクロライド] およびパーフルオロスルホン酸ポリマーからなる。

使用できる適当なパーフルオロスルホン酸ポリ マーは、少なくとも約900の部舗低量(e q u マalcat wclght)を有するものである。少なくとも約1100の等価重量は好ましい。

パーフルオロスルホン酸溶液は、イー・アイ・ デュポン社から簡優ナフィオン(Nafion ●)で商家的に販売されており、そして、また、マーチン (Martin) らの手順 [Anal. Chem., Voi. 54,1839 (1982)] によって演製することができる。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水 溶性樹脂のポリマー、例えば、ポリピニルピロリ ドンを含有する。この材料の存在は、コーティン グまたは膜を、試験溶液の透過性をよりよくし、 そして読みをより遠くする。

ポリピニルピロリドン (PVP) が水溶性ポリマーであるとき、それは、一般に、約 を越える、好ましくは約 を越える平均分子量をおする。

使用できる他の選当なポリマーは、ポリエチレンオキシド、ポリビニルアルコール、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴムなどを包含する。

さらに、好ましいコーティング組成物は、また、水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸 ビニルラテックス接着剤を含有する。この物質

のための鎖い境界を形成し、その広がりを結構に 電極の区域に限定する。

グラファイトは納性または確水性の表面を有するが、驚くべきことには、水性コーティング組成物はそれによってはじかれないこと、およびコーティングは、乾燥後、それに接着性であることがわかった。

コーティングを乾燥すると、それは、臭悪的には、コーティングの1gにつき、約 ~約 単位のグルコースデヒドロゲナーゼ、約 ~約

低量%のNAD+、約 ~約 低量%の
メチレンブルーおよび約 約 重量%のパー
フルオロスルホン酸ポリマーを含有する。さら
に、コーティングは、0~約 重量%、好まし
くは約 ~約 重量%の水溶性ポリマー、お
よび0~約 低量%、好ましくは約 ~約

ð.

コーティングは、乾燥後、一般に、的 ~的 mm、好ましくは的 ~的 mmの厚さ は、決定解似のとき気質して硬化し、これによって追加の一体性を決定解母したコーティングに付 与し、コーティングが試験溶液で湿潤したときの 崩壊を少なくすると思われる。

使用できる他の水性エマルジョン接着剤は、ア クリレートおよびメタクリレートエステルのラ テックスポリマーを包含する。

約1000の使い捨てキャリヤーのための謎定アノードの調製に十分な、典型的なコーティング組成物は、約2000~約3000単位のグルコースデヒドロゲナーゼ、約0・2~約0・5をのニコチンアミドアデニンジヌクレイド、約0・01~約0・03をのメチレンブルーおよび約1~約2mlのパーフルオロスルホン酸ポリマーを1・25重量%のポリマーを含有するメタノール中の溶液として含有する。

コーティング組成例を測定電極の上表面に適用 し、次いで乾燥させる。測定電極を取回むモート は、電極のヘリにおいて鋭い表面を形成し、これ によって、表面張力により、コーティング組成物

を有する.

特定の実施感様において、約1000の電極の ためのコーティング組成物は、次の成分からなる

- 1) グルコースデヒドロゲナーゼ、2610単位、
- 2) ニコチンアミドアデニンジヌクレイド、ナ トリウム塩、0.348g、
 - 3) メチレンブルー、0.0204 g.
- 4) ポリピニルピロリドン (水中1%), 1. 517g、
- 5) ポリ酢酸ビニルラテックス (水中2.1%)、0.453g、
- 6) パーフルオロスルホン酸ポリマー (水中 1.25%)、1.532ml。

グルコースデヒドロゲナーゼ、NAD* および メチレンブルーを、まず、水性ポリピニルピロリ ドン溶液中に限拌しながら溶解する。次いで、ポ リ酢酸ピニルラテックスを、完全に配合するまで 飛拌しながら、添加する。組成物が視件されてい この段階におけるコーティング組成物の外似 は、一般に、非常に暗い音であり、分散した機能 な思い粒子を含む。

操作における護定電極の性質を、第3図および 第4図に示す。第3図は2種類の試験に関する。 それは、第1 試験において、電極におけるアンペ アを示し、電極が、まず、5ミリモルのグルコースを含有する目番り定め側溶液に暴露され、次いで(120秒後)2ミリモルのグルコースを含有するようにつくられた試験溶液に基端されるとき、アンペアは変動する。第2試験は、何様であるが、試験溶液は20ミリモルのグルコースを含有するようにつくられる。

第3 図の左の曲線を左から右に読むと明らかな ように、電極は、最初、不規則な未知の電気的 「ノイズ」の理由によって、少量の電益(約1 %)

前述の特定のコーティング組成物を使用して作られた。第3図の試験において使用した特定のシステムについて、試験溶液のアンペアの読みについての最適な時間は、目盛り定め補溶液の解放後的180秒および試験溶液の解放後的60秒である。他のコーティング組成物を使用すると、最適な送取り時間は目透り定め解溶液の解放後2分的どに短い時間から数時間までに変化するであるう。

第4回は3種類の別々の曲線を含み、そして次の3種類の目盛り定め初について、他位を変化させたときの確定地流の変勢を示す:ルコースを含有しない目盛り定め例、および5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め例(それぞれ、幽線アノード上のコーティングがメチレンブルーを含っていか。、および曲線とおけるのと同様のグルコースを含有すするが、コーティングが崩滅の変した近のメチレンブルーを含って記載において記載した近のメチレンブルーを含有する目盛り定め例。

リアンペア)を発生し、そして電旋は、約60秒 以内に、日盛り定め間溶液が電極に到達するにつれて、3ミリアンペアに近くまで上昇する。

試験溶液が解放されると、約120秒後、混合 作用によるアンペアの瞬間的なわずかの上昇が存 在し、次いで、試験溶液が目底り定め開溶液を希 取し、そのグルコース含量を低下させるにつれ て、アンペアは一定して低下する。

これと対照的に、右の曲線は、また、目盛り定め情溶液が電極に到達するときの、最初の80秒間のアンペアの増加を示す。これに引続いて、第2以験溶液が解放されるとき、120秒後、アンペアは大きく増加し、試験溶液が目盛り定め溶液のが止れるとき、溶液のグルコースは上昇しはじめる。約180秒の後、約10ミリアンペアのピークアンペアが凝取られ、この時、この装置のよってアンペアが凝取られ、そして目優り定め情溶液についてのアンペアの設みと関係づけられて、試験溶液の所望の減みが得られる。

理解できるように、面線AおよびCの間において、曲線AおよびBの間におけるより、大きい窓が存在し、そして面線Aにおける電流のレベル(グルコースに起因しない電流を示す)はより高い遺圧において許容されないほどに高い。こうして、コーティング組成物中のメチレンブルーの存在は、その不存在において得ることができるよりも、より大きい感度および精度を試験に与える。 最適な結果は約0.2~約0.4ボルトの遺位を付与したとき得られる。

第5回は、極端な精度が読みの速さを犠牲にして望まれるとき、有用である木墨明の他の実施態様を示す。第5回において、第2回に類似する要素は四様な参照数字を有し、そして理解できるように、この実施選様における反応成分含有コーティング32グラファイトアノードおよび適用した試験溶液と直接接触しない。むしろ、反応応送りて、なりではペーフルオロスルホン酸ポリマーの2層41および42の間に快まれる。水性媒質中の崩壊に対するパーフルオロスルホン酸ポ

下

リマー屋の抵抗は、武験改体のアノードへの殺透 を遅くし、そしてコーティングのアセンブリーに 一体性を付与するので、コーティングのアセンブ リーは要求するより長い接触期間のために衆着性 を保持する。

第5回の実施患様は、例えば、横端な精度を保証しかつ読みの測度が二次的な重要性をもつ決定、例えば、血液中のエチルアルコールのレベルの決定にとくに右肩である。

以下の表は、電視を発生するためにグルコース オキシダーゼ反応を利用する、商業的に入手可能 なグルコースのアンペア調定システムと比較し た、木発明のシステムの性能の特性を提供する。

	逐	
	先行技術の	木発明の
	システム	システム
特度		
血费	3 - 8 %	3 - 5%
全血液	6-10%	3 - 5 %
金面遊を使用する		•

し、これによってブラウ17による孔関けによって 26の底において箱のシールを破り、そして 326から目掛り定め間の液体を毛管漁路13の中に流入させ、ここで目扱り定め間の液体は3つのすべての電極18、19および21と接触する。目掛り定め間の液体の値れが、液体へっち、目掛り定め間の対象の競みを分析装置によって目描り 20分割を 30分割を 30分

試験放体は、この時点において、電極18.1 9 および21を含有する毛管造路3の部分において目扱り定め削旋体を置換する。毛管道路中の試 験磁体の旋れは、また、液体ヘッドの減少および 毛管作用のために、停止し、そして最後の測定は

最低の検出レベル るミリモル Iミリモル以 最高の検出レベル 20ミリモル 30-35 2 リモル 爾楽の妨害 大きい、酸素 なし の抑餅骨号 全血液を使用する 温度の影響 大きい 酸素のシステ ムのわずかに 1/4 抗腐さ 曲海 土 1 ミリモル 1ミリモル以 全血液 ±1.5%1 1ミリモル以

操作において、まず、体の試料を室27に挿入し、次いで室をキャップ28で密閉し、そして悠知装置における適当なスロット中にこのカードアセンブリーを挿入する。次いで、キャップ28およびシリンダー23を開始位置から90°だけ回

モル

分析設置によってなされる。センサーの競みに基づいて、目盛り定め例の液体が測定電板2.1 と培地したときおよび試験液体が測定アノード2.1 と接触したとき、分析装置は試料液体中のグルコースの環度を誘導する。

本発明は、主として、グルコースレベルの決定 に関して説明した。しかしながら、本発明は、適当なデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に脱水実され うる他の化学種、例えば、エタノール、乳酸塩な どを検出するために使用できる。

本免明を好ましい変態態様を参照して説明した が、木免明の投示および範囲を逸歴しないで、 権 々の変化および変更が可能である。

木角切の主な医様および特徴は、次の通りである。

1、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、脱水器に対して盛受性の選択した化学的 種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ酢器の存在下に、アンペア測定的 に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用

特開平2~1535 (8)

するための L 回使用の感知を選において、前記電極の L つは、メチレンブルー、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマーおよび 南記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知を含。

2、前記録業はグルコースデヒドロゲナーゼである上記第1項記載の感知数器。

3、前記コーティング組成物は水溶性樹脂のポ リマーを含有する上記第1項記載の感知要数。

4、前記水溶性樹脂のポリマーはポリピニルピロリドンからなる上記第3項記載の感知装置。

5、前記コーティング組成物は水性エマルジョン接着剤を含有する上記第1項記載の感知装置。

5、前記接着例はポリ酢酸ビニルラテックスからなる上記第1項記載の路知装置。

7、前記コーティングは約 ~約 mmの 以さを有する上記第1項記載の感知装置。

8、前記コーティングは、約 ~約 単位 /8のグルコースデヒドロゲナーゼを含有し、そ

11、 南配外表面は、南配選択した化学的種の 南配路液でぬらす南に、日盛り定め開路液でぬら す上記的10項配線の方法。

12、前記選択した化学的種はグルコースであり、そして前記デヒドロゲナーゼ酵素はグルコースデヒドロゲナーゼである上部第10項記載の方法。

13、前記選択した化学的種はアルコールであり、そして前記デヒドロゲナーゼ群当はアルコールデヒドロゲナーゼである上記第10引記儀の方法。

14、前記コーティングは、さらに、水溶性樹脂のポリマーおよび硬化したエマルジョン接着剤を含有する上記第14項記載の方法。

15、商記水溶性樹脂のポリマーはポリビニル ピロリドンであり、そして崩記硬化したエマル ジョン接着相は硬化したポリ酢酸ビニルである上 記第14項記載の方法。

16. 前記コーティングは、約 ~約 他 位/8のグルコースデヒドロゲナーゼ、約 ~ して約 ~的 重量%のNAD+、約 ~ 約 重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマー および約 ~約 重量%のメチレンブルーを 合有する上記第2項記載の感知装置。

重量%のポリビニルビロリドンおよび約 一的 重量%の硬化したポリ酢酸ビニルを含有する上記第8項記載の感知装置。

9、前記コーティングは、さらに、約

10、脱水楽に対して必受性の選択した化学的 構の發度を、水溶性中において、そのためのデヒ ドロゲナーゼ酵楽の存在下に決定する方法であっ て、電極上のコーティングの外表面を前記寄液を のし、前記溶液を前記コーティングを 通過させ、そして前記電極と他の電 では、の間の電液を生成させ、その後、前記電のの でとの間の電液を生成させ、その後、前記コーティングはメチレンブルー、NAD+、ペーフルオロ スルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種 の促水楽のための酵素からなることを特徴とする 前記方法。

的 重量%のNAD+、的 ~的 重量% のパーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約 ~約 重量%のメチレンブルーを含有する上記 第15項記載の方法。

17、前配アンペアは付加された電位において 測定する上配第10項記載の方法。

18、前配付加された電位は約0.2~約0. 4ポルトである上記第17項記載の方法。

19、NAD+、パーフルオロスルホン酸ポリ マー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酸 楽からなる電板コーティング紅成物。

20. 前記酵素はグルコースデヒドロゲナーゼ である上記第19項記載の組成物。

21、前記コーティング組成物は、さらに、ポリビニルピロリドンおよびポリ酢酸ビニルラテックスを含有する上配第20項記載の組成物。

的 重量%のメチレンブルーおよび的 ~約 重量%のポリ酢酸ビニルラテックスを含有する上記第20項記載の組度物。

23、NAD+、パーフルオロスルホン酸ポリマー、ポリビニルピロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテックスおよびデヒドロゲナーゼ酸素からなるコーティングをその上に有する導電性本体からなる感知装置のための電極。

24、前記専定性本体はグラファイトである上記的23項記載の電極。

25、前記コーティングは、約 ~約 重 最彩のNAD+、約 ~約 重量光のパーフ ルオロスルホン酸ポリマー、約 ~約 重量 光の硬化したポリ酢酸ビニルラテックス、および コーティングの18につき約 ~的 単位の グルコースデヒドロゲナーゼからなる上記第23 項記載の電極。

28. 煎記コーティングは単一の層のコーティングである上記第23項記載の電極。

27、前記コーティングは多層コーティングか

らなり、ここで上記第23項記載の成分を含有する層がパーフルオロスルホン酸ポリマーから本質的に成る2層の間に挟まれている上記第23項記載の選集。

4、図面の簡単な説明

第1図は、木発明のシステムにおいてキャリヤーの分解斜視図である。

第2図は、本発明の測定電板の拡大断面図である。

那3図は、2つの測定における時間に対する選 洗の変勢を示すグラフであり、ここで測定量のグ ルコースを含有する試験溶液は5ミリモルのグル コースを含有する目盛り定め付である。第1測定 において、試験溶液は2ミリモルのグルコースを 含有する。

第4図は、(1) グルコースを含有しない目盤 り定め開溶液、(2) 5ミリモルのグルコースを 含有する阿様な溶液、および(3) 阿一母のグル コースおよび、さらに、 mg/mlのメチレン ブルーを含有する阿様な溶液についての、加えた

電圧に対する電流の変数を示すグラフである。

第5 図は、木苑明の調定電板の他の実施思線の 上部の拡大部分販面図である。

- 10 烙缸装置
- 11 ++リヤー
- 12 板
- 13 毛管通路
- 14 入口端
- 16 出口端
- 17 上昇した部分
- 18 バックグラウンドアノード
- 19 カソード
- 2.1 測定アノード
- 22 円筒形ガイドスリーブ
- 23 多室シリンダー
- 2.4 内部の膜
- 26 目盛り定め預室
- 28 ++ 7
- 29 ウェブ

31 グラファイトプラグ

32 設またはコーティング

33 E-1

34 遊電性トラック

41 居

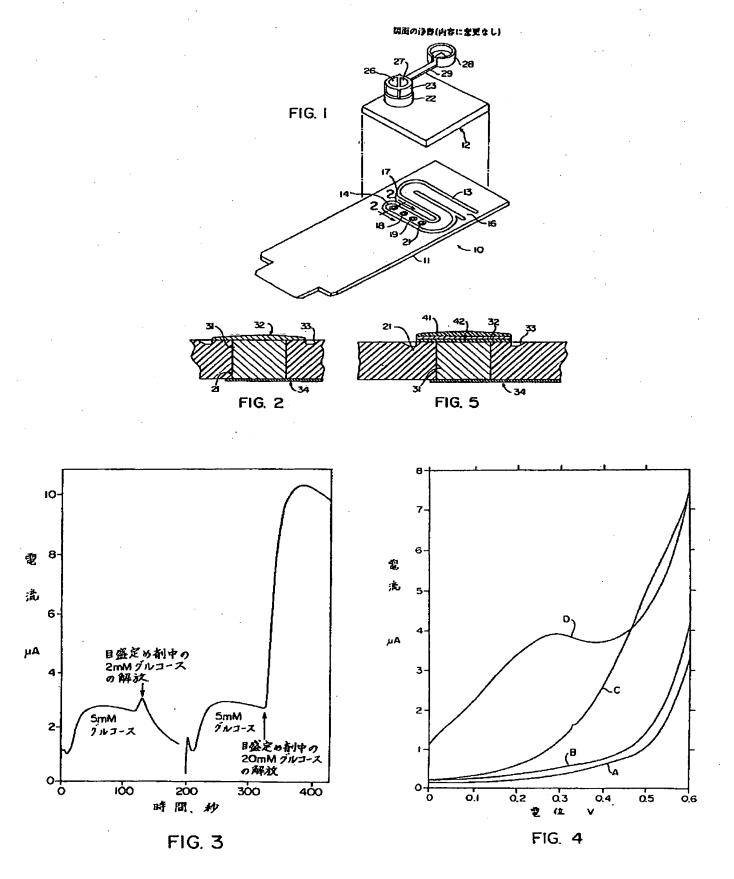
42 片

特許出願人 アーデン・メディカル・システムズ

・インコーポレーテッド

化 理 人 介理士 小田島 平 吉





第1頁の続き

®int. C1. ⁵

識別記号

庁内整理番号

G 01 N 27/416

②発明者 ウイリアム・ブイ・フ

アメリカ合衆国ミネソタ州55417ミネアポリス・ノコミスアベニユーサウス 4925

手統 補正 哲

昭和63年10月6日

特許庁長官 古 田 文 毅 殿



1. 事件の安示

アスポート イラー フィーア35 昭和63年10月5日提出の特許関

2.発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的機の測定のためのセンサー

3.補正をする者

事件との関係

特許出頭人

名 称 アーデン・メデイカル・システムズ・ 4 ンコーポレーテンド

4. 代 理 人 中107

住 所 東京都港区赤坂 1 丁目 9 番 1 5 号 日 本 自 転 平 会 館 氏 名(6078)弁理士 小田島 平 哲 電 話 5 8 5 - 2 2 5 6



- 5. 舘正命令の日付
- 6. 矯正の対象

明細間の特許請求の範囲の側、発明の許細な説明 の個及び図面の間単な説明の個並びに図面

7. 補正の内容

明 網 1

1、発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の 例定のためのセンサー

2、特許請求の範囲

1、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、脱水器に対して感受性の選択した化学的 個のレベルをその移液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ辞楽の存在下に、アンペア測定的に、 後出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用する ための1回使用の感知装置において、前記電極の 1つは、メチレンブルー、NAD*およびNAD P*から成る舞のコファクター、パーフルオロス ルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の 脱水器のための酵素からなる組成物でコーティン グされていることを特徴とする前記感知装置。

2、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、水業化に対して感受性の選択した化学的 種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア源定的に、 検出できる臨床化学的分析変配と一緒に使用するための1回使用の感知效配において、前記電視のしつは、メチレンブルー、NADHおよびNADHから成る群のコファクター、パーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

3、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、その疳液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、、 検出できる 歴化学的分析技 置と一緒に使用するための1 四使用の抵知技 殴いて、 前記電極の1 つは、メチレンブルー、 NAD P および NAD P から 成る 都のコフアクター、 パーフルオロスルホン酸 オリマーおよび 前辺 仮 極でコーティングされていることを特徴とする 前記 窓 知芸 優 。

4、脱水素に対して感受性の選択した化学的種 の決定を、水溶液中において、そのためのデヒド ログナーゼ研索の存在下に決定する方法であって、

のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

6、脱水素に対して感受性の選択した化学的機の設度を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であったのでは、放在上のコーティングを通過させて前記を提供させ、その後、前記は他の電流を生成させ、その後、前記コーティングはメチレンブルー、NAD*およびNADP*より成る群のコファクラー、パーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的機の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

7、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなる電極コーティング組成物。

8、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマー、ポリビニルビロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテックスおよびデヒドロゲナーセ酵素からなるコーティングをその上に有する源電性本体か

電極上のコーティングの外表園を前記溶液でぬらし、前記溶液を励記コーティングを通過させて前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流のアンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NAD*およびNADP*から成る群のコファクター、パーフルオロスルホン散ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

5、水素化に対して感受性の遺状した化学的機の遺皮を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を超過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記コーティングはメチレンブルー、NADHおよびNADPHから成る群のコファクター、パーフルオロスルホン時ポリマーおよび耐器環状した化学的機の農水素

らなる感知強圧のための電腦。

3、発明の詳細な説明

本発明は、医学的接置に関する。とくに、本発明は、水溶液、とくに体液、例えば、全血液、血 兼および尿の中の酵素脱水素可能なまたは水素化 可能な物質、例えば、グルコースまたはピルピン 酸のレベルを、アンペア的に、固定するために使 用する、臨床化学的分析装置に関する。

・ 虚者の血液または他の体液中のある機の化学的 物質および/または生物学的物質のレベルを構築 に、信頼性をもって、かつ迅速な情報を得ること が、現代の診断医学において、要求されている。

最も普通の決定の1つは、血液または尿中のグルコースの決定であり、そして、便宜上、以後の 説明はグルコースのレベルの決定に集中される。

一回使用の感知装置を利用するこのような分析のために有用なシステムは、1987年3月31日付けの米国特許第4、654,127号(リチャード W. ペイカーおよびロウジャー し.フンク) (その開示を引用によってここに加え

る) に記載されている。

米国特許部4.854.127号の技量において、体液、何えば、血液または尿の試料を多室の受容の1つの室に入れ、一方目盛り定め剤の液体を受力の他の室に入れる。次いで、センサーの電気の変化の変化がある。液体を促れさせる。液体とセンサー電流を強いて、試験は料を混れさせる。液体とセンサー電流を強定しかつ関係づけて、試験液体中の特定の物質の強度に関する所望の情報を得る。次いで、キャリャー(carrier)を廃棄する。

米国特許第4、654、127号のシステムにおけるセンサー電磁の各々は、ポリマーおよび電気的活性種を含むコーティングを有するものとして開示されており、ここでポリマーはセンサーの活性区域にわたって度をつくり、そしてシステムの運電性表面に近くに電気的活性機を固定化する機能を有する。

また、溶液中のそのレベルを測定すべきある物 質、例えば、グルコースは、 適当なデヒドロゲナ

ここでSH。およびSは、その設定を決定すべき 他の、それぞれ、水煮化および脱水素された形態 を表わし、そしてMoxおよびMredは、それぞれ、 仲介物質の酸化されたおよび及元された形態を表 わす。

グルコースのレベルの電気化学的検出のための 最も普通のアッセイの系は、グルコースオキシダ ーゼの存在下に分子状酸素によりグルコースを酸 化して、グルコール酸および過酸化水素を生成す ることを含む。電気化学的検出は、酸素の資耗に、 あるいは過酸化物の発生に関係づけることができ ス

いずれの場合においても、この機構の主要な欠点は改素の利用可能性における制度である。 この 制度は、試験液体において直面することが期待される設度の所呈の直線の範囲のために、適切な散 素の供給を保証するために、予備者釈を必要とす ーゼ酵素の存在下に脱水素に対して感受性である こと、およびこのような脱水楽は電子を遊離し、 これによって部定可能な電流を発生することは知 られている。ほとんどの場合において、脱木楽は 直接電流に変換されないが、むしろ、コファクタ ー、例えば、NADH(NAD*の選元された形 趙-ニコチンアミドアデニンジヌクレイド)、 お よび仲介物質を含む反応の機構による。このよう なシステムの一般的化学は、次の論文において論: じられている:ロ・ゴルトン(Lo Gorton)、 「ニコチンアミド被酵素の電気放進的酸化のため の化学的変性した唯植(Chemical Modified of Nicotinamide Coenzymes) 1 . I. Chem. Soc. Faraday Tran s. 1. . 1986. 8 2, 1245-1258(その開示を引用によっ) てここに加える)。ロ・ゴルトン(Lo Gorton) の論文における反応機構は、次によって変わされ **&** :

る。さらに、全血酸の測定は、ヘモグロビンの酸 素級衡能力のために、精磁に測定することが非常 に困難である。

あるいは、先行技術は、化学反応において酸素の代わりに仲介物質を使用し、これはセンサー電価上の腹またはコーティング中に挿入されて、予価者駅の必要性を排除した。ペンゾキノンを仲介物質として選択する場合、グルコースとペンゾキノンとのグルコースオキシダーゼの存在下の反応はグルコール酸およびハイドロキノンを生成する。

この別法は、所望の(および顔足する)反応が グルコースと分子状酸素との前述の反応と競争す るという欠点を有する。こうして、異なる酸素 度をもつ試料は、同一のグルコース濃度において 異なる治費の応答を生成することがある。この妨 许は全血液の測定において最も原表である。

本発明の1つの面によれば、キャリヤーおよび 少なくとも2つの電視からなり、脱水楽に対して 感受性の選択した化学的種のレベルをその溶液中 においてそのためのデヒドロゲナーゼ磨索の存在 下に、アンペア制定的に、検出できる監床化学的 分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知 技武において、前記電極の1つは、メチレンブル ー、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマー および前記選択した化学的種の脱水素のための酵 葉からなる組成物でコーティングされていること を特徴とする前記感知装置が提供される。

肝ましくは、コーティング組成物は、また、木

ーゼ酵素を含有せず、むしろ試験すべき体液のデ ヒドロゲナーゼ酵素の含量によって消費されるこ とが期待される量を越える量において、固定すべ き酵素による水糞化または脱水素に対して癌受性 の徴を含有する。

本免明のシステムにおいて、グルコース含量を、 例えば、アンベアに翻訳するために必要な成分の すべては、グルコース含量の期待する直線の範囲 のために週切な供給で、コーティング中に配合さ れる。こうして、試料の予備者釈は不必要である。

さらに、酸素は測定において含まれず、そして 酸素の適度はそれに必要を及ぼさない。

コーティング中のメチレンブルーの存在は、低い印加電圧における検出および薄定を可飽とし、.
こうしてより高い電位において酸化に感受性でありうる機からの妨害を持険する。

本免明のコーティングされた電極は、急速に応答し、2分以下の精確な測定を可能とする。

最後に、膜の組成物は水溶液中に可溶性でなく、 そして信製性ある剤定の実施を可能とするために 的性機能のポリマー、例えば、ポリピニルピロリドン(PVP)および水性エマルジョン接着剤、 例えば、ポリ酢酸ピニルラテックス接着剤を含有 する。

ある股水素反応について、この分野において知られているように、コファクター (cofactor) として、NAD・の代わりにNADP・(ニコチンアミドアデニンジスクレイドホスフェート) を使用することが好ましいことがある。

本発明は、また、脱水楽よりわむしろ、水漆化に感受性である化学的種に、デヒドロゲナーゼ酸素、例えば、ビルビン酸の存在下の適用することができる。このような用途において、コファクターの水液化された形態、すなわち、NADHまたはNADPHをNAD*またはNADP*の代わりにコーティング組成物において使用する。

本発明の他の実施超様において、本発明は体液 または他の水溶液中のデヒドロゲナーゼ酵素のレ ベルを検出するために使用できる。このような場 合において、コーティング組成物はデヒドロゲナ

十分に長い期間の間その一体性を保持する。アニ オン性パープルオロスルホン酸ポリマーはカチオ ン性メチレンブルーを腹に結合するとほじられる。

本発明の感知電極は測定アノードであり、肝主しくは単一のカソードおよび地面に電子を伝達する並列の2つの別々のアノードの1つである。他方のアノードは、『バックグラウンドアノードは、 ので、カソードは、び 地面に関して一定の気におけるように、 試験 許に暴露されることによって起こる測定アノードにおける状態およびカンドの電子の発生の変化は、 アノードおよびカン・ドの間に印面する電圧に無視できる影響のみを有す

調定アノードおよびパックグラウンドアノードの円者は、肝ましくはグラファイトから作る。カソードは、肝ましくは、蛭から作り、そして塩化銀のコーティングを有する。前途のコーティング組成物でコーティングされるのは測定電極のみである。

パーフルオロスルホン酸ポリマーが唯一の問題 成分であるコーティング組成物において、コーティ ングは目盛り定め剤(calibrant)の液体および 試験液体のそれを通過する急速な移送のためには 由でありすぎる。こうして、このような組成物は より遅い試験において使用することができるが、 急速な認みを提供することを意図するシステムに おいては好ましくない。

コーティング組成物が、また、木格性関射のポリマーを含む好ましい実施関準において、コーティング組成物は目盛り定め割および試験溶液のそれを添す息波な参送を可能とする。

好ましい組成物は、また、乾燥のとき架構した 調造体を形成する、水性エマルジョン接着層、例 えば、ポリ酢酸ビニルラテックスを含有し、これ によって改良された一体性を組成物に与える。

第1図は、本発明の感知被置10の全体の構成 を示す。この装置は、強靭な、非導電性ブラスチッ ク材料、例えば、アクリロニトリループタジエン ースチレンーコポリマー (ABS) から作られた、

円筒形ガイドスリーブ22は、入口17より上版 18の1つの角に取り付けられている。多まっぱいが一23はスリーブ22内に回転24を行いた取り付けられており、そして内部の壁24を作いた。 15の壁はシリングーを、目盛り定め対はの目をはかりによっても15をでで、近知の度でいた。 それの 23の上端より上に配置される。

関性のカードの形限キャリヤー11、およびその一端をカパーする板12を含む。板12は、一般に、透明なプラスチック材料から作られるが、透明性は必須ではない。

キャリヤーの一端に、板より下に、毛管通路! 3が存在し、これは5字形であり、そしてキャリ ヤー11の上表面と実質的に平坦なS字形カバー の下表面との間の狭い空間によって定められる。 毛管通路13は入口端14と出口端16との間を 走行する。入口ぬに、「ブラウ(ploy)と呼ぶ、 5 字形の毛管通路のカバーの上昇した部分17が 存在する。そのプラウの機能は、後述するように、 目盛り定め刻むよび試験容波を保持するはくに孔 を聞け、そしてこれらの溶液を、速焼的に、毛質 通路の入口14に入らせることである。 パックグ ラウンドアノード18、カソード19および測定 アノード21は、毛管通路内に、その入口に隣接 して、存在し、そして各々は、測定アノード2~ について第2図に示すように、「モート (moat)」 33によって取囲まれている。

3に至る。キャリヤー11の両方の面における導 電性トラック34は、測定アノードにおいて発生 した電子を感知装置内の接点へ導き、そして完極 的に所望の読みを提供するマイクロブロセッサへ 減く。

バックグラウンドアノード18は、コーティングまたは膜をもたない以外、適定アノード21に 類似する。カソード19はキャリヤー11を通し て延びる銀のブラグであり、その上表面は塩化銀 の薄い層でコーティングされている。

コーティング32は、前述のように、少なくともグルコースデヒドログナーゼ(グルコースが拠定すべき化学程でるとき)、メチレンブルー [3... 7 ービス (ジメチルアミノ) フェノチアジン・5 ーイウムクロライド] およびパーフルオロスルホン酸ポリマーからなる。

使用できる適当なパーフルオロスルホン酸ポリマーは、少なくとも約900の等価直及(equvalent veight)を有するものである。少なくとも約1100の等価性量は好ましい。

パーフルオロスルホン酸溶液は、イー・アイ・デュポン社から高硬ナフィオン (Nafion®) で 商業的に販売されており、そして、また、マーチン (Martin) らの手順 [Anal. Chem. . Vol. 54,1639 (1982)] によって興製する ことができる。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水 耐性機能のポリマー、例えば、ポリピニルピロリ ドンを含有する。この材料の存在は、コーティン グまたは膜を、試験溶液の透過性をよりよくし、 そして読みをより速くする。

ポリビニルビロリドン (PVP) が水溶性ポリマーであるとさ、それは、一般に、約10,000 を越える、好ましくは約300,000を越える平均分子趾を有する。

使用できる他の適当なポリマーは、ポリエチレンオキシド、ポリピニルアルコール、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴムおよびアルギン散などを包含する。

さらに、好ましいコーティング組成物は、また、

し、次いで乾燥させる。測定電極を取囲むモートは、電極のへりにおいて超い表面を形成し、これによって、表面張力により、コーティング組成物のための観い弦界を形成し、その広がりを精確に電板の区域に限定する。

グラファイトは袖性または確水性の表面を有するが、 驚くべきことには、水性コーティング組成物はそれによってはじかれないこと、 およびコーティングは、 乾燥後、それに投着性であることがわかった。

コーティングを乾燥すると、それは、典型的には、コーティングの1gにつき、約4000~約8000単位のグルコースデヒドログナーゼ(またはその約8~約16重量%のメチレンブルーおよび約2~約4重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマーを含有する。さらに、コーティングは、0~約7重量%、肝ましくは約1~約3重量%の催化したエマルジョ

水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸ビニルラテックス接着剤を含有する。この物質は、決定酵母のとき架構して硬化し、これによって追加の一体性を決定酵母したコーティングに付与し、コーティングが試験溶液で延潤したときの崩壊を少なくすると思われる。

使用できる他の水性エマルジョン接着剤は、ア クリレートおよびメタクリレートエステルのラテッ クスポリマーを包含する。

約1000の使い捨てキャリヤーのための河定 アノードの国盛に十分な、典型的なコーティング 組成物は、約2000~約3500単位のグルコ ースデヒドログナーゼ(または50単位/mg括 性に落いて約0.04~約0.07g)、約0.2 ~約0.5gのニコチンアミドアデニンジスクレ イド、約0.01~約0.03gのメチレンブル ーおよび約1~約2mlのパーフルオロスルホン酸 ポリマーを1.25 重量%のポリマーを含有する メタノール中の溶液として含有する。

コーティング組成物を測定電極の上表面に適用

ン投着剤を含有する。

コーティングは、乾燥後、一般に、約2~約4 ミル、好ましくは約3~約3.5ミルの厚さを育する。

特定の実施競技において、約1000の電極のため のコーティング組成物は、次の成分からなる:

- 1)グルコースデヒドログナーゼ、2235単位、
- 2)ニコチンアミドアデニンジヌクレイド、ナトリウム塩、0.298g、
 - 3) メチレンブルー、 0 . 1 7 5 g、
- 4) ポリビニルピロリドン (木中1%)、1. 300g、
- 5) ポリ酢酸ビニルラテックス (水中2.1%)、0.388g、
- 6) パーフルオロスルホン酸ポリマー (水中1.25%)、1.313ml。

コーティング組成物は、肝ましくは、約500 一約1000単位/mlのグルコースデヒドロゲナーせ、約9~約15度登%のNAD*、約0.3 一約0.6 重量%のパーアルオロスルホン酸ポリマー、約0.4~約0.9 重量%のメチレンブルーおよび約0.1~約0.6 重量%のポリ酢酸ビニルラテックスを含有する。組成物の変部は溶媒、主として水である。

グルコースデヒドロゲナーゼ、NAD*および メチレンブルーを、まず、水性ボリビニルゼロリ ドン酸液中に撹拌しながら溶解する。次いで、ポ リ酢酸ビニルラテックスを、完全に配合するまで 撹拌しながら、添加する。組成物が撹拌されてい る間、パーフルオロスルホン酸ポリマー溶液を が な 加する。1~2分にわたる、この成分のゆっ くりした添加は、ポリマーをコーティング組成物 内に
効知に分散させるために必要である。

この段階におけるコーティング組成物の外観は、 一般に、非常に聞い育であり、分散した散期な異 い粒子を含む。

路作における測定電極の性質を、第3図および 第4図に示す。第3図は2種類の試験に関する。 それは、第1試験において、電極におけるアンペ

間のアンペアの増加を示す。これに引続いて、第 2 試験溶液が解放されるとき、1 2 0 秒後、アン ペアは大きく増加し、試験溶液が目盛り定め剤溶 液中に配合され、それと置換されるとき、溶液の グルコースは上昇しはじめる。約1 8 0 秒の後、 約1 0 ミリアンペアのピークアンペアが課取られ、 この時、この装置のよってアンペアが課取られ、 そして目盛り定め剤溶液についてのアンペアの読 みと関係づけられて、試験溶液の所望の読みが得 られる。

朗述の特定のコーティング組成物を使用して作られた、第3回の試験において使用した特定のシステムについて、試験溶液のアンペアの設みについての最適な時間は、目盛り定め剤溶液の解放後約60秒である。他のコーティング組成物を使用すると、最適な認動の時間は目盛り定め剤溶液の尿放後2分段度に短い時間から20分またはそれ以上までに変化するであろう。

第4回は、4つの別4の曲線を含有し、そして

アを示し、電板が、まず、5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め剤溶液に暴露され、次いで(120秒後)2ミリモルのグルコースを含有するようにつくられた試験溶液に暴露されるとき、アンペアは変動する。第2試験は、同様であるが、試験溶液は20ミリモルのグルコースを含有するようにつくられる。

第3図の左の曲線を左から右に設むと明らかなように、電優は、最初、不規則な未知の電気的「ノイズ」の理由によって、少量の電流(約1ミリアンペア)を発生し、そして電流は、約60秒以内に、目盛り定め利用液が電極に到達するにつれて、3ミリアンペアに近くまで上昇する。

試験音破が解放されると、約120秒後、混合作用によるアンペアの瞬間的なわずかの上昇が存在し、次いで、試験溶破が目盛り定め削密液を希取し、そのグルコース含量を低下させるにつれて、アンペアは一定して低下する。

これと対照的に、右の曲線は、また、目盛り定め削溶液が電極に到途するときの、最初の60秒

グルコースを含有しない目盛り定め剤(歯酸 A および B)について、および 5 ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め剤(曲度 C および B)について、印加した電位を変化させて、測定した電流の変動を示す。曲線 A および C は、アノードのコーティングがメチレンブルーを含有しないシステムを変わす。曲線 B および D は、コーティング が以後の特定の実施例に記載する量でメチレンブルーお含有するシステムを変わす。

理解できるように、血線AおよびCの間において、血線BおよびDの間におけるより、大きい差が存在し、そして血線AおよびBにおける電流では、いて、 在して血線AおよびBにおける電流では、 はない電流を示すように、 コーティング組成物中のメチレンブルーの存在は、 その不存在において 得ることができるよりも、より大きい感度および 補皮を 鉄 に与える。 最適 な 結果 は 約0.2 一 約0.4 ポルトの電位を付与したとき 得られることを 曲線 が示している。

特開平2-1535 (18)

第5回は、極端な精度が読みの速さを犠牲にし て望まれるとき、有用である本発明の他の実施恩 様を示す。第5図において、第2図に頭似する要 素は同様な参照数字を有し、そして理解できるよ うに、この実施機様における反応成分合有コーティ ング32グラファイトアノードおよび適用した試 験辞波と直接接触しない。むしろ、反応成分含有 コーティングはパーフルオロスルホン酸ポリマー の2暦41および42の間に挟まれる。水性媒質 中の別腹に対するパーフルオロスルホン酸ポリマ - 暦の抵抗は、試験液体のアノードへの浸透を遅 くし、そしてコーティングのアセンブリーに一体 性を付与するので、コーティングのアセンブリー は要求するより長い接触期間のために発着性を保 持する。

第5回の実施頒及は、例えば、福端な精度を保 証しかつ説みの選座が二次的な重要性をもつ次 足、例えば、血液中のエチルアルコールのレベル の決定にとくに有用である。

以下の表は、電流を発生するためにグルコース

かに1/4.

絹確さ

血斑 しミリモル/& 1 ミリモル以

全血液 ± 1. 5 & 1 」ミリモル以

> モルノ4 下/』

過作において、まず、体の試料を宝27に挿入 し、次いで室をキャップ28で密閉し、そして感 知義置における適当なスロット中にこのカードア センブリーを挿入する。次いで、キャップ28お よびシリンダー23を開始位置から90°だけ回 し、これによってブラウー?による孔娟けによって て金25の底において箱のシールを破り、そして 室26から目盛り定め剤の液体を毛管通路13の 中に流入させ、ここで目盛り定め前の液体は3つ のすべての危後18、19および21と按触する。 目盛り定め刻の液体の流れが、液体ヘッドの減少 および表面張力のために、停止したとき、目盛り 定め剤の試験の読みを分析装置によって目盛り定 め剤のグルコースレベルに応答して行う。いった

オキシダーゼ反応を利用する、西菜的に入手可能 なグルコースのアンペア間足システムと比較した、 本発明のシステムの性能の特性を提供する。

先行技術の 本発明の システム システム 3 - 8 % 3 - 5 % 6-10% 全血液を使用する | ミリモル 最低の検出レベル 3ミリモル/1 以下/』

最高の検出レベル20ミリモル/1 30 - 35

ミリモル

/ 2

なし 脱虫の妨害 大きい、酸素

の抑制信号

全血液を使用する

桥瓜

血浆

全血液

大きい 産者のシス 温度の影響 テムのわず

んこの読みがなされると(一般に約120秒後)、 キャップ28およびシリンダー23をもう一度こ の時は180°だけ試料の試験位置へ回し、ここ て室27の底における箔のシールをプラウl7に よって孔開けし、そして試験流体は毛質通路13 の入口し4の中に放入する。

試験流体は、この時点において、電極18。1 9 および2 1 を含有する毛管通路 3 の部分におい て目盛り足め剤液体を置換する。毛質通路中の拡 教苑体の流れは、また、液体ヘッドの減少および 毛管作用のために、停止し、そして最後の測定は 分析装置によってなされる。センサーの読みに基 づいて、目盛り定め前の液体が測定電板21と均 地したときおよび試験液体が測定アノード21と 接触したとき、分析装置は試料流体中のグルコー スの設定を誘導する。

本発明は、主として、グルコースレベルの決定 に関して説明した。しかしながら、本発明は、道 当なデヒドログナーゼ酵素の存在下に脱水素され うるまたは水素化されうる他の化学種、例えば、

エタノール、乳酸塩、ビルベート、コレステロール、スレエート、グリセロールおよびグルタメート、ピルビン酸塩、コレステロール、りんご酸塩、グリセロールおよびグルタミン酸塩などを検出するために使用できる。

本発明を肝ましい実施風様を参照して説明したが、本発明の数示および範囲を逸脱しないで、様々の変化および変更が可飽である。

本発明の主な関係および特徴は、次の通りである。

1、キャリヤーおよび少なくとも2つの遺極からなり、脱水素に対して感受性の選択した化学的でのレベルをその額嵌中においてそのためのデとドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア部定的に、検出できる庭尿化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前配電医の1つは、メチレンブルー、NAD*およびNADP*から成る群のコフアクター、パーフルオロスルホン酸ボリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための概率からなる組成物でコーティン

案のための酵菜からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

4、前記酵素はグルコースデヒドログナーゼである上記第1項記載の悠知装置。

5、前記コーティング組成物は水溶性樹脂のポリマーを含有する上記第1.2 および3項のいずれかに記載の感知装置。

6、前記水溶性樹脂のポリマーはポリビニルビロリドンからなる上記部5項記載の癌知器配。

7、 簡配コーティング組 皮物 は水性エマルジョン 接着剤を含有する上記第1. 2 および 3 項のいずれかに記載の感知装置。

8、前配接着剤はポリ酢酸ビニルラテックスか 6なる上配館了項記載の感知装置。

9、前記コーティングは約2~約4ミルの厚さ を有する上記第1、2および3項のいずれかに記 載の感知装置。

10、前記コーティングは、約4000〜約8 000単位/gのグルコースデヒドロゲナーゼを 合有し、そして約75〜約87重強%のNAD*、 グされていることを特徴とする前記感知装置。

2、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、水楽化に対して感受性の選択した化学的 種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペ語に使用する にはいてきる溶水化学的分析装置と一緒に使用する ためのし、メチレンブルー、NADHおよび PA はいる。は、メチレンブルー、NADHおよび PA はいる。は、メチレンブルー、ではないではないがある。 はいる。は、メチレンブルー、ではないないないがある。 はいる。は、メチャンが変配のでは、パーフル ないないないないないないないないないない。 ないないないないないないないない。 ないないないないないないないないない。 ないなことを特徴とする前記感知を ないないることを特徴とする。

3、キャリヤーおよび少なくとも2つの電磁からなり、その溶液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ砕素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる際床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NAD*およびNADP*から成る群のコフアクター、パーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的値の脱水

約2~約4度量%のパーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約3~約6度量%のメチレンブルーを含有する上記部4項記載の感知装置。

11、前記コーティングは、さらに、約2~約4 単位%のポリビニルビロリドンおよび約1~約3 重量%の硬化したポリ酢酸ビニルを含有する上記第10項配載の感知装置。

14、脱水素に対して感受性の選択した化学的 個の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒ ドロゲナーゼ酸素の存在下に決定する方法であっ て、電極上のコーティングの外表面を前記溶液で ぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させ て前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電 値との間の電流を生成させ、その後、前記電流の

を含有する上記第12、13および14項のいず れかに記載の方法。

19、前記水溶性樹脂のポリマーはポリビニル ピロリドンであり、そして前記硬化したエマル ジョン接着剤は硬化したポリ酢酸ピニルである上 記数1.8 項記載の方法。

20、前記コーティングは、約4000一約8000単位/Eのグルコースデヒドロゲナーゼ、約75~約87重量%のNAD*、約3~約6重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約2~約4重量%のメチレンブルーを含有する上記第19項配載の方法。

21、前記アンペアは付加された電位において 関定する上記第12.13および14項のいずれ かに記載の方法。

2 2 、前記付加された電位は約 0 . 2 ~ 約 0 . 4 ポルトである上配第 2 1 項配数の方法。

23、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなる電極コーティング組成物。

アンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NAD*およびNADP* より成る群のコフアグター、パーフルオロスルホン数ポリマーおよび前記選択した化学的種の製水 素のための酵素からなることを特徴とする前記方

15、前記外表面は、前記選択した化学的種の 前記部被でぬらす前に、目盛り定め削額被でぬら す上記第12.13むよび14項のいずれかに記 載の方法。

16、前記選択した化学的様はグルコースであり、そして前記デヒドロゲナーゼ酵素はグルコースデヒドロゲナーゼである上記第12項記載の方法。

17、確認選択した化学的技はアルコールであり、そして前記デヒドロゲナーゼ酵素はアルコールテヒドロゲナーゼである上記第12項記載の方
tt

1.8、前記コーティングは、さらに、水粕性樹脂のポリマーおよび硬化したエマルジョン接着剤

2 4 、前記群素はグルコースデヒドロゲナーゼ である上記第 2 3 項記載の組成物。

25、麻配コーティング担成物は、さらに、ボ リビニルピロリドンおよびポリ酢酸ビニルラテァ クスを含有する上記第23項記載の組成物。

26、前記コーティングは、約500~約10 00単位/m1のグルコースデヒドロゲナーゼ、約9~約15重量%のNAD*、約0.3~約0.6 重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマー、約0.4~約0.9重量%のメチレンブルーおよび約0.1~約0.6重量%のポリ酢酸ピニルラテックスを含有する上記第24項記載の組成物。

27、NAD*、パーアルオロスルホン酸ポリマー、ポリビニルピロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテァクスおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなるコーティングをその上に有する準電性本体からなる感知装置のための電極。

28、前記導電性本体はグラファイトである上 記第27項記載の電極。

29、前記コーティングは、約75~約87重

特開平2-1535 (21)

最%のNAD'、約2~約4度量%のパーフルオ ロスルホン酸ポリマー、約1~約3重量%の硬化 したポリ酢酸ピニルラテックス、およびコーティ ングの1gにつき約4000~約800.0単位の グルコースデヒドロゲナーゼからなる上記部でで 項記蔵の質極。

30、前記コーティングは単一の階のコーティ ングである上記第27項記載の電極。

31、前記コーティングは多層コーティングか らなり、ここで上記第27項記載の成分を含有す る暦がパーフルオロスルホン酸ポリマーから本質 的に成る2層の間に挟まれている上記第27項記 黄の気塔...

4、図面の簡単な説明

第1因は、本箱明のシステムにおいてキャリ ヤーの分解解視図である。

第2回は、本発明の間定電板の拡大断面図であ **3** -

第3回は、2つの測定における時間に対する電 辺の変動を示すグラフであり、ここで測定量のグ

等統補正書 (法)

平成1年3月7日

特許庁長官 吉 田 文 穀 殿

1. 事件の表示

昭和63年特許顯第251736号

2. 発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的機の測定のための

3. 補正をする者

事件との関係 **人配出**结铁

アーデン・メデイカル・システムズ・ インコーポレーテッド

4.代 理 7107

> Œ 所 東京都港区赤坂1丁目9番15号 日本自版本会館

Œ 名 (6078)弁理士 小 田 島

跃

585-2256

5. 補正命令の日付 平成1年1月31日(発送日)

6. 緒正の対象 顕書の特許出願人の欄、委任状及び その訳文並びに図面

7. 補正の内容 別紙のとおり 図面のみち(内容に変更なし) 特許庁

ルコースを含有する試験消滅は5ミリモルのグル コースを含有する目盛り定め前である。第1個定 において、試験辞波は2ミリモルのグルコースを 合有する。

第4図は、グルコースを含在するか、あるいは 合有しない目盛り定め剤について、およびメチレ ンプルーを含有するか、あるいは含有しない目盛 り定め剤について、印加した電圧に対する電流の 変動を示すグラフである。

第5回は、本発明の測定電極の他の実施固機の 上部の拡大部分断面図である。

アーデン・メデイカル・システム 特許出關人 ズ・インコーポレーテツド

弁理士 小田島

